

Protocollen voor de Bedrijfsgezondheidszorg

Nitrobenzeen

Onder redactie van de begeleidingscommissie
Onderzoeksmethoden Chemische Belasting

Inspectiedienst SZW

6000
S. Aist
10/37
SZW

S 30-37

boccs- AIST- 30/37

Protocollen voor de (3^e ex)
Bedrijfsgezondheidszorg

Nitrobenzeen

Onder redactie van de begeleidingscommissie
Onderzoeksmethoden Chemische Belasting

december 1994

Algemene gegevens

- chemische naam	: nitrobenzeen
- synoniem	: nitrobenzol oil of mirbane oil of bitter almonds
- chemische formule	: $C_6H_5NO_2$
- moleculaire massa	: 123,11
- CAS nummer	: 98-95-3

1. FYSISCH-CHEMISCHE EIEIGENSCHAPPEN

- aggregatietoestand (20 °C)	: vloeibaar
- smeltpunt	: 5,7 °C
- kookpunt (1 bar)	: 210,8°C
- dampdruk (25 °C)	: < 1,33 mbar
- oplosbaarheid in water	: 1,9 g/L
- conversiefactor (20 °C, 1 bar)	: $1 \text{ mg/m}^3 = 0,2 \text{ ppm}$ $1 \text{ ppm} = 5 \text{ mg/m}^3$

Bij 20 °C is nitrobenzeen een kleurloze tot licht-gele, olie-achtige vloeistof met een sterke bittere geur.

2. KINETIEK

Opname

Nitrobenzeen als damp wordt opgenomen zowel via de ademhalingswegen als door de huid. Bij blootstelling van een vrijwilliger aan nitrobenzeen, 5 mg/m^3 in de lucht, werd in 6 uur 18 mg door de longen en 7 mg door de huid geresorbeerd. De snelheid van percutane resorptie van de dampvorm blijkt afhankelijk te zijn van de concentratie in de lucht: bij 5 mg/m^3 ongeveer 1 mg per uur, bij 20 mg/m^3 ongeveer 9 mg per uur. Er is berekend dat een werknemer bij blootstelling aan de MAC-waarde (5 mg/m^3) gemiddeld ongeveer 35 mg nitrobenzeen tijdens een werkdag resorbeert. De percutane resorptiesnelheid van nitrobenzeen in de vloeistofvorm kan variëren van $0,2 - 3 \text{ mg/cm}^2$ per uur.

Biotransformatie

Het metabolisme van nitrobenzeen verloopt enerzijds via reductie tot aniline gevolgd door hydroxylering tot aminofenolen, anderzijds rechtstreeks via hydroxylering tot nitrofenolen. 13-16% van de geresorbeerde hoeveelheid verschijnt in urine als p-nitrofenol en minder dan 10% als p-aminofenol. In de urine van geëxponeerde mensen en proefdieren worden geconjugeerde eindproducten van beide fase-1 metabolieten aangetroffen, zoals glucuroniden, sulfaat-koppelingsproducten en mercaptuurzuurderivaten.

De hydroxylering van nitrobenzeen tot nitrofenolen kan ook verlopen d.m.v. een peroxidase in aanwezigheid van zuurstof. De reductie van nitrobenzeen tot aniline gaat gepaard met het ontstaan van intermediaire producten, zoals fenylhydroxylamine dat methemoglobinemie kan veroorzaken. De daaropvolgende stap, de hydroxylering van aniline tot p-aminofenol is goed onderzocht.

Eliminatie

Nitrobenzeen wordt hoofdzakelijk uitgescheiden in de vorm van metabolieten. Slechts een zeer kleine fractie van de onveranderde stof wordt verwijderd via de uitademingslucht of urine. Uitscheiding van de belangrijkste metabolieten p-nitrofenol en p-aminofenol bedraagt niet meer dan 20-30% van de opgenomen hoeveelheid nitrobenzeen. Het lot van 70-80% is niet bekend.

Halfwaarde tijden

Nitrobenzeen heeft een relatief lange verblijftijd in het lichaam. Tijdens achtereenvolgende dagelijkse blootstellingen vindt accumulatie plaats. Bij mensen met acute of subchronische nitrobenzeen vergiftiging werd een halfwaarde tijd gemeten van 86 uur. Eliminatie halfwaarde tijden van de metabolieten p-nitrofenol en p-aminofenol zijn resp. 12 en 4 uur.

3. DYNAMIEK

Acute effecten

De primaire targets van nitrobenzeen zijn de erythrocyten. Het eerste signaal van overexpositie is methemoglobinemie. Wanneer het methemoglobine gehalte ongeveer 15% heeft bereikt verschijnt cyanosis. Bij hogere belasting gaan zich ook effecten op het centrale zenuwstelsel manifesteren. Daarbij ontstaan verschijnselen als moeheid, hoofdpijn, misselijkheid, braken en duizeligheid. Bij snelle opname van grotere hoeveelheid kan zelfs bewusteloosheid en coma

optreden. De laagst letale dosis die voor de mens is gemeld, bedraagt 35 mg/kg. In dierproeven werden nystagmus, paralysis, overgevoeligheid, tremoren en het verlies van reflexen waargenomen.

Chronische effecten

Bij chronische belasting met nitrobenzeen kunnen zich achtereenvolgens een aantal min of meer karakteristieke symptomen voordoen: moeheid, gebrek aan eetlust, maagklachten, zwakte, duizeligheid, depressies, en in een verder stadium: anemie, leverfunctiestoornis en nierfunctiestoornis.

De vorming van methemoglobine kan ook leiden tot het ontstaan van Heinz bodies in de erythrocyten.

4. EXPOSITIE BUITEN DE ARBEID

Nitrobenzeen wordt als grondstof gebruikt bij de synthese van onder meer geneesmiddelen, kleurstoffen, springstoffen en bestrijdingsmiddelen. Daarnaast komt nitrobenzeen als bestanddeel voor in de meeste schoenpoetsmiddelen en boenwas. Ook wordt het nog gebruikt als kunstmatige amandel smaakstof. Met blootstelling buiten het beroep moet dus in principe worden rekening gehouden.

5. BIOLOGISCHE MONITORING

Biologische monitoring van expositie aan nitrobenzeen is sterk aan te bevelen vanwege de mogelijkheid dat een omvangrijke resorptie plaats heeft niet alleen via inademing maar tevens via de huid. Relatief snelle huidopname geldt zowel voor de vloeibare als de dampvormige vorm van nitrobenzeen.

Inwendige belasting kan worden vastgesteld door bepaling in urine van de totale concentratie van p-nitrofenol, de belangrijkste metabooliet. Het gebruik van p-nitrofenol in urine als biomarker van geïntegreerde expositie wordt ondersteund door resultaten van verscheidene experimenten met vrijwilligers. Deze betreffen enkelvoudige inhalatoire blootstellingen en herhaalde blootstellingen via inademing gecombineerd met percutane resorpties van nitrobenzeendamp. Er werd berekend dat een herhaalde, dagelijkse blootstelling aan de MAC-TGG, 5 mg/m³, uitgaande van resorptie zowel in de luchtwegen als in de huid, kan resulteren in het verschijnen in urine van 5 mg nitrofenol/g creatinine. Deze geschatte waarde komt ook over-

een met de p-nitrofenolconcentratie in urine aan het einde van een werkweek van werkers die beroepsmatig zijn blootgesteld aan nitrobenzeendamp (5 mg/m^3) terwijl contact met vloeibaar nitrobenzeen werd vermeden. Derhalve wordt de concentratie $5 \text{ mg p-nitrofenol/ g creatinine}$ aanbevolen als biologische grenswaarde.

Een andere, minder gangbare, methode voor biologische monitoring is de meting van adductvorming van de metaboliet aniline aan hemoglobine. De DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) heeft een Biologischer Arbeitsstoff-Toleranz-Wert (BAT) voor nitrobenzeen vastgesteld op basis van de hoeveelheid gebonden aniline, die uit bloed kan worden vrijgemaakt: $100 \text{ microgram aniline per liter bloed}$. Deze methode is welliswaar gevoeliger maar ingewikkelder en duurder dan de p-nitrofenolbepaling in urine.

6. OPSPORING VAN VROEGE EFFECTEN

De meeste acute effecten van nitrobenzeen kunnen worden beschouwd als een gevolg van de vorming van methemoglobine. Meting van methemoglobine in bloed kan dus een bruikbare indicator zijn voor nitrobenzeenblootstelling, zij het dat deze effectparameter weinig agensspecifiek is. Bij niet-blootgestelden wordt doorgaans een gemiddelde methemoglobine-gehalte gevonden van $1,2 \pm 0,8\%$. Bij methemoglobine-gehalten rond 15% treedt in beperkte mate cyanosis op: eerst aan lippen, nagels, oorlel, neuspunt; bij hogere methemoglobine-gehalten kunnen klachten optreden: hoofdpijn, duizeligheid en vermoeidheid.

In geval van beroepsmatige nitrobenzeen expositie worden waarden voor methemoglobine tot 5% toelaatbaar geacht.

7. OVERWEGINGEN

De correlatie tussen de concentratie van nitrobenzeen in de lucht op de werkplek en de p-nitrofenol concentratie in urine bleek aan grote variabiliteit onderhevig te zijn. ($r = 0,760$). Dit wordt vooral toegeschreven aan een uitgebreide opname van nitrobenzeen door de huid. Contact met bepaalde chemicalien (zoals parathion) of gebruik van geneesmiddelen die tijdens hun metabolisme in p-nitrofenol worden omgezet, moeten worden aangemerkt als versturende factoren.

Bij personen met bepaalde aangeboren enzymdefecten, zoals glucose-6-fosfaatdehydrogenase

deficientie, een zwakke acetylerings-status en hemoglobinanomalieën kan een extra gevoeligheid voor nitrobenzeen kan worden verwacht. Ook alcohol gebruik kan de toxische effecten vergroten.

8. MONSTERNAME EN ANALYSE

Urinemonsters moeten worden verzameld aan het einde van de laatste dag van de werkweek. Hierin worden de gehalten aan creatinine en p-nitrofenol gemeten. Er bestaat een eenvoudige colorimetrische methode voor de bepaling van totaal p-nitrofenol, zowel in de vrije als de geconjugeerde vorm. Nitrofenolconjugaten worden zuur gehydrolyseerd. p-Aminofenol wordt verwijderd met behulp van een extractie in een organisch oplosmiddel bij pH 4. Na re-extractie met verdund ammoniumhydroxyde wordt vervolgens p-nitrofenol gereduceerd tot p-aminofenol door behandeling met zink en HCl. p-Aminofenol wordt door reactie met fenol omgezet in indofenol, waarvan de extinctie spectrofotometrisch wordt bepaald (Piotrowski, 1977).

9. CONCLUSIE

De huidige MAC-TGG waarde bedraagt 1 ppm (5 mg/m^3), H-indicatie. Door de WGD is geen advieswaarderapport uitgebracht.

Nitrobenzeen kan niet alleen relatief gemakkelijk worden opgenomen door de huid tijdens contact met de vloeibare vorm, echter ook de dampvormige nitrobenzeen is goed resorbeerbaar in de huid. Daarom is voor een optimale expositie- en gezondheidsbewaking biologische monitoring zeer belangrijk.

Bepaling van p-nitrofenol in urine geeft een indicatie van inwendige nitrobenzeenbelasting. Als biologische limiet wordt geadviseerd een waarde van 5 mg p-nitrofenol/g creatinine aan het einde van de werkweek. Deze waarde is equivalent aan een herhaalde blootstelling aan de MAC-TGG waarde. Omdat accumulatie van nitrobenzeen en de metaboliet p-nitrofenol optreedt gedurende de werkweek, kan het beste een urinemonster worden onderzocht op het einde van de werkweek.

Methemoglobine in bloed kan worden beschouwd als een indicator voor een vroeg effect. Een methemoglobine gehalte van 5% wordt in het algemeen nog toelaatbaar gevonden.

10. LITERATUUR

American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Documentation Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, Cincinnati, 1992-1993.

W. Albrecht, H.G. Neumann: Biomonitoring of Aniline and Nitrobenzene. Arch. Toxicol., 57: 1-5, 1985.

R.C. Baselt: Biological Monitoring Methods for Industrial Chemicals. Biomedical Publications, Davis, CA, 1980, p. 207-209.

Deutsche Forschungsgemeinschaft: Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositions äquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA). VCH, D-69451 Weinheim (D), 1994.

M. Ikeda, A. Kita: Excretion of p-nitrophenol and p-aminophenol in the urine of a patient exposed to nitrobenzene. Br. J. Ind. Med. 21: 210-213, 1964.

R.R. Lauwerys, P. Hoet: Industrial Chemical Exposure: Guidelines For Biochemical Monitoring. Lewis Publ., Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1993.

Z. Myslak, J.K. Piotrowski, E. Musialowicz: ^ Acute nitrobenzene poisoning. Arch. Toxicol. 28: 208-213, 1971.

J. Piotrowski: Further investigations on the evaluation of exposure to nitrobenzene. Br. J. Ind. Med. 24: 60-65, 1967.

J.K. Piotrowski: Exposure Tests for Organic Compounds in Industrial Toxicology. DHEW Publ. No. (NIOSH) 77-144. U.S. Printing Office, Washington, D.C., 1977.

J. Salmowa, J.K. Piotrowski, U. Neuhorn: Evaluation of exposure to nitrobenzene. Br. J. Ind. Med. 20: 241-246, 1963.

N.I. Sax: *Dangerous Properties of Industrial Materials*. 6 A, Van Nostrand Reinhold. New York, p. 2010, 1984.

J. Teisinger (Ed.): *Expositionstests in der Industrietoxikologie*. Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1984, p. 51-53.

H. Uehleke: Nitrosobenzene and phenylhydroxylamine as intermediates in the biological reduction of nitrobenzene. *Naturwissenschaften* 50: 335-336, 1963.